Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Bonn
(Direktor: Prof. Dr. M. Bürger)

Zur Frage der Lösung und Haltbarkeit des kristallinischen Insulins „Bonn"

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Bonn

Vorgelegt am 15. Dezember 1937
von

Heinz-Ulrich Neumann-Kleinpaul
aus Falkensee bei Berlin

Bonn 1938

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Bonn

Referent: Prof. Dr. Bürger

Korreferent: Prof. Dr. Deuticke

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Erscheint als Sonderabdruck in
„Naunyn-Schmiedebergs Archiv für experimentelle Pathologie
und Pharmakologie", Band 189, 1. Heft.

Verlag von F. C. W. Vogel in Berlin

Meiner lieben Mutter

†

In neuester Zeit ist es Abel und seinen Mitarbeitern gelungen, aus Trockeninsulin kristallinisches Insulin herzustellen. Dieses läßt sich leichter dosieren als das Extraktinsulin. Außerdem haftet ihm neben anderen Begleitstoffen ein wahrscheinlich im Pankreas vorgebildeter Körper, ein „hyperglykämisierendes Prinzip", das von Murlin Glukagon genannt wurde, nicht an. Das Glukagon verschleiert bei der Standardisierung den Insulineffekt, da es den Blutzucker im entgegengesetzten Sinne beeinflußt.

In unserm Laboratorium gelang es Bruch nach dem von Abel ausgearbeiteten Verfahren kristallinisches Insulin darzustellen, und Stallmann konnte nach einer von Scott angegebenen Methode aus deutschem Trockeninsulin kristallisiertes Insulin erhalten und durch Abänderung des Verfahrens die Ausbeute von 10% auf 25—30% erhöhen. Diese bessere Ausbeute berechtigt zu der Hoffnung, daß in Zukunft statt des handelsüblichen Trockeninsulins mit seinen Nebenwirkungen das kristalline Produkt ohne Begleitsubstanzen und mit seiner besseren Dosierungsmöglichkeit in die Praxis eingeführt wird. Nach Mitteilung der I. G. Farbenindustrie wird dort in dieser Richtung der erste Großversuch gemacht.

Das in unserem Laboratorium hergestellte kristallinische Insulin wurde von Kohl auf seinen biologischen Wert geprüft. Er konnte feststellen, daß das kristallinische Insulin „Bonn" einen etwa doppelt so großen Wirkungsumfang hat wie die gleiche Menge Standardinsulin der Völkerbundskommision. Für seine Versuche löste er Trockeninsulin, Standardinsulin und Insulin „Bonn" in Phosphatpufferlösung ($p_H = 7{,}34$) auf und spritzte es intravenös an Testtiere.

Für meine Versuche über die Zerstörung des kristallinischen Insulins durch normales Blut benutzte ich das von Stallmann nach der abgeänderten Methode von Scott hergestellte kristallinische Insulin, das sich

aus einer Lösung von Trockeninsulin in Phosphatpufferlösung bei gleichzeitigem Zusatz von Zink- und Eisensalzen abgeschieden hatte. Die Methodik der Kristallisation hat Stallmann[1] veröffentlicht.

Es war mir nun bei meinen Versuchen aufgefallen, daß bei der Lösung des kristallinischen Insulins in Phosphatpufferlösung sich stets ein feiner Niederschlag bildete. Ich versuchte deshalb zunächst festzustellen, ob dieser Niederschlag ausgefallene Salze waren, oder ob es sich um teilweise ungelöstes Insulin handelte.

Zu diesem Zweck löste ich 1 mg Insulin „Bonn" in 20 ccm Phosphatpufferlösung vom $p_H = 7{,}34$. Nach kräftigem mehrmaligem Umschütteln und längerem Stehenlassen wurde die Lösung zentrifugiert; das Sediment verglich ich unter dem Mikroskop mit dem Ausgangsmaterial. Es zeigte sich, daß die Kristalle des Sedimentes mit den Kristallen des Ausgangsmaterials genau übereinstimmten. Dadurch war einwandfrei die Tatsache festgestellt, daß sich das Insulin „Bonn" nicht oder nur unvollständig in der Phosphatpufferlösung löste.

Versuche über das Verhältnis des in Phosphatpufferlösung gelösten zum ungelösten Teil des kristallinischen Insulins.

Methodik.

Um die Frage zu klären, ob und in welchem Mengenverhältnis Insulin „Bonn" in Phosphatpufferlösung in Lösung geht, schwemmte ich 1 mg kristallinisches

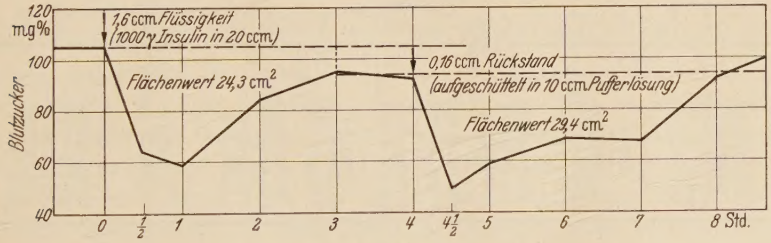

Abb. 1.

Insulin in 10 bzw. 20 ccm Phosphatpufferlösung von einem $p_H = 7{,}34$ auf. Unter mehrmaligem Umschütteln wurde diese Aufschwemmung 45 Min. lang auf 37° erwärmt und hinterher 15 Min. bei 3000 bis 4000 Umdrehungen zentrifugiert. Von der überstehenden Flüssigkeit wurde 1 ccm pro kg den Test-Kaninchen intravenös in die Ohrvene injiziert und der Blutzuckerabfall fortlaufend verfolgt. Der Rest der überstehenden Flüssigkeit wurde vorsichtig abgesaugt. Um den Rückstand nachzuwaschen, wurde er dreimal mit 10 ccm Phosphatpufferlösung aufgenommen und jedesmal abzentrifugiert. Wenn der Blutzucker des Testtieres nach der Injektion der klaren überstehenden Flüssigkeit seinen Ausgangswert wieder erreicht hatte, wurde sofort 0,1 ccm pro kg Testtier des in 10 ccm aufgeschüttelten Rückstandes intravenös gespritzt und wiederum der Blutzuckerabfall verfolgt. Die Kaninchen waren vor dem Versuch 24 Stunden lang nicht gefüttert worden; während

[1] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 1 (1937).

des Versuchs konnten sie sich auf einem kleinen Tisch frei bewegen. Sie wurden so schonend wie möglich behandelt, damit kein physiologischer Blutzuckeranstieg erfolgte. Vor der ersten Injektion wurde stets zweimal der Blutzucker-Nüchternwert bestimmt, einmal 30 Min., das andere Mal direkt vor der Injektion. Durch den Mittelwert wurde die Abszisse für die später gezeichnete Blutzuckerkurve gelegt (s. Abb. 1). Nach der Injektion wurde zunächst alle 30, später alle 60 Min. der Blutzucker bestimmt. Wenn der Blutzuckerausgangswert nicht wieder erreicht wurde, innerhalb 1 Stunde aber nur um wenige mg% unter dem Ausgangswert schwankte, dann konnte daraus geschlossen werden, daß der in der überstehenden Flüssigkeit gelöste Insulinanteil seinen Endwirkungseffekt zeitlich erreicht hatte. Nun konnte der Rückstand an demselben Tiere auf seine eventuelle Wirkung geprüft werden. Als Ausgangswert der Blutzuckerkurve nach der Injektion des Rückstandes wurde der Mittelwert der beiden letzten Blutzuckerbestimmungen gewählt, vorausgesetzt, daß sie sich nur um wenige mg% voneinander unterschieden.

Der Wirkungsumfang des Insulins wurde von Bürger und Kohl als eine Fläche definiert, die neben der Blutzuckersenkung auch ihre Dauer berücksichtigte. Die Fläche wird oben von einer durch den Ausgangswert laufenden Horizontale, unten durch die dem Tiefstpunkt zustrebende und dann zur Ausgangshorizontalen zurücklaufende Kurve begrenzt. Die in meinen Versuchen erhaltenen Blutzuckerkurven wurden nach dieser Methode auf Millimeterpapier eingezeichnet, wobei 1 mm der Abszisse 2 Min. und 1 mm der Ordinate 1 mg% Blutzucker entsprach. Die Fläche wurde planimetrisch errechnet und in Quadratzentimetern angegeben. Der Blutzucker wurde nach der Methode von Hagedorn und Jensen bestimmt. Insgesamt habe ich bei der Durchführung meiner Versuchsreihen etwa 2200 Blutzuckerbestimmungen vorgenommen. Dieses große Material dürfte es ermöglichen, die oben gestellte Frage zu beantworten, ob und in welchem Umfange Insulin „Bonn" in der Phosphatpufferlösung vom $p_H = 7{,}34$ wirklich in Lösung geht.

Tabelle 1.

Wirkung des in Phosphatpuffer gelösten Teiles des Insulins „Bonn".

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Kaninchen Nr.	Gewicht in g	Zentrifugat einer Aufschwemmung 1000 γ in ccm Pufferlösung	Injizierte Menge	Blutzuckerausgangswert in mg%	Blutzuckertiefstpunkt in mg%	Maximale Senkung in mg%	Mittlere Senkung in mg%	Dauer der mittleren Senkung in Min.	Blutzucker-Ausgangswert wurde erreicht nach Std.	Wirkungsumfang in qcm	Wirkungsumf. von 0,1 ccm berechnet auf eine Aufschwemmung 1000 γ in 10 ccm
61	2200	10	2,2	118	48	70	46	152	6	78,3	3,56
63	1600	20	1,6	110	51	59	36	78	4	32,5	4,06
65	1900	20	1,9	105	53	52	38	58	3	23,6	2,48
66	1600	20	1,6	116	59	57	40	120	5	50,1	6,26
67	1600	20	1,6	105	59	46	36	58	3	24,3	3,04
Mittelwerte: Kan. Nr. 63—67						50	38	74	3,8	Mittel der 5 Versuche	3,88

Wirkung des in 10 ccm Phosphatpuffer aufgeschüttelten Rückstandes.

1 a	2 a	Rückstand aufgen. in ccm	4 a	5 a	6 a	7 a	8 a	9 a	10 a	11 a	12 a	13
61	2200	10	0,22	99	49	50	30	100	3	27,4	12,50	1 : 3,5
63	1600	10	0,16	98	67	31	22	76	4	21,6	13,50	1 : 3,3
65	1900	10	0,19	106	72	34	17	74	4	15,6	8,21	1 : 3,3
66	1600	10	0,16	106	72	34	28	110	4	30,2	18,88	1 : 3,0
67	1600	10	0,16	93	49	44	32	50	4	29,4	18,40	1 : 6,0
Mittelwerte der 5 Versuche:						39	26	82	4		14,30	1 : 3,8

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Aus Tabelle 1 geht hervor, daß von der überstehenden Flüssigkeit eine 10 bzw. 20mal größere Menge den Testtieren injiziert wurde als vom Sediment. Die Menge verhielt sich aber immer entsprechend dem Gewicht des Tieres, denn es wurden immer 1,0 ccm Flüssigkeit und 0,1 ccm Rückstand pro kg Kaninchen gespritzt. In Spalte 11 und 11a ist der Wirkungsumfang der gesamten injizierten Menge der Flüssigkeit und des Rückstandes, in Spalte 12 und 12a ist der daraus errechnete Wirkungsumfang von 0,1 ccm angegeben. Spalte 13 zeigt das Verhältnis des Wirkungsumfanges von 0,1 ccm überstehender Flüssigkeit zu 0,1 ccm Rückstand.

Der Mittelwert aus den fünf Versuchen ergibt, daß die Wirkung des Rückstandes 3,8mal größer ist als die der überstehenden Flüssigkeit.

Wenn die Summe der Wirkung der Flüssigkeit und des Sediments mit 100% Insulinwirkung angesetzt wird, dann entfallen im Mittel 79% der Wirkung allein auf den ungelösten Teil.

Es geht daraus hervor, daß von 1 mg kristallinischem Insulin „Bonn", aufgeschwemmt in 10 bzw. 20 ccm Phosphatpufferlösung vom $p_H = 7{,}34$, nur 21% wirklich gelöst werden.

Wird der Wirkungsumfang von 0,1 ccm der überstehenden Flüssigkeit einer Aufschwemmung von 1 mg Insulin auf 10 ccm Pufferlösung berechnet (Spalte 12) und der Mittelwert (3,88) zum Mittelwert des Wirkungsumfangs des in 10 ccm aufgeschüttelten Sediments (14,30) addiert, so erhält man einen Gesamtwirkungsumfang von 18,2 qcm. Dieser Gesamtwirkungsumfang entspricht 10 γ Insulin „Bonn" (in 10 ccm wurden 1000 γ aufgeschwemmt; 0,1 ccm enthält 10 γ), die sich zu 21% in Lösung und zu 79% im Sediment befinden. Daraus errechnet sich ein Wirkungsumfang von 1,82 qcm für 1 γ. Wenn Kohl bei der Standardisierung des kristallinischen Insulins „Bonn" für 1 γ einen Wirkungsumfang von 2,16 bzw. 2,43 qcm (Mittelwert 2,28 qcm) findet, ich dagegen einen Wirkungsumfang für 1 γ Insulin von 1,82 erhalten habe, so findet diese Tatsache wohl ihre Erklärung in dem verschiedenartigen Ansprechen der Testtiere auf Insulin oder aber darin, daß bei meinem erheblich größeren Arbeitsgang kleinste Mengen Insulin, es handelt sich dabei um Bruchteile eines mg, verlorengegangen und nicht zur Wirkung gekommen sind.

Es kann deshalb angenommen werden, daß nach gutem Umschütteln des ungelösten Teils und nach schneller Injektion das Insulin voll und ganz zur Wirkung kommt. Doch muß für die praktische Anwendung des Insulins „Bonn" dafür gesorgt werden, daß die ungelöste Insulinmenge nicht durch Sedimentierung bei der Einspritzung und damit therapeutisch verlorengeht. Es müssen ferner Mittel und Wege gefunden werden, den ungelösten Insulinanteil gleichfalls zur Lösung zu bringen, damit der Therapeut mit einer klaren Flüssigkeit arbeiten kann und nicht gezwungen ist, getrübte Flüssigkeiten zu verwenden. Besonders der praktische Arzt wird beim Auftrete

von Trübungen an „Verunreinigungen" denken und bei der Benutzung des Präparats unsicher werden. Die Forderung „klarer Lösung" ist deshalb von großer praktischer Bedeutung.

Versuche über die Lösung des kristallinischen Insulins.

Um das kristallinische Insulin „Bonn" genau dosieren zu können, ist es wie gesagt nötig, daß es voll in Lösung gebracht wird.

Aus den obigen Versuchen geht hervor, daß der ungelöste Teil nach der Injektion in der Blutbahn in Lösung übergeht, sonst hätte er keine Wirkung auf den Blutzucker haben können.

Die Lösungsversuche wurden, um das wertvolle Material zu sparen, in einem großen Tropfen auf dem Objektträger mit kleinsten Mengen Insulin, das in dem Tropfen verrührt wurde, ausgeführt. Das Mikroskop gab dann darüber Aufschluß, ob sich noch Kristalle in dem Tropfen befanden. Auf diese Weise wurden die 28 Insulinfraktionen, die ich im Institut von Herrn Prof. M. Bürger bereitwilligst zur Verfügung gestellt bekam, auf ihre Löslichkeit in verschiedenen Lösungsmitteln geprüft.

Es konnte festgestellt werden, daß alle Fraktionen des Insulins „Bonn" in Menschen-, Rinder- und Kaninchenserum in Lösung gingen. Diese biologischen Flüssigkeiten waren also imstande, die Kristalle anzugreifen, dagegen waren die Resultate mit 1% wässeriger Trockengalle und mit frischer, gesunden Schlachttieren entnommenen Blasengalle völlig negativ. Auch Versuche mit Cholsäure, Glykocholsäure und Desoxycholsäure hatten nicht das gewünschte Ergebnis.

Wie die Lösungsversuche mit Phosphatpufferlösung erfolglos blieben, so waren es auch die Versuche mit physiologischer Kochsalzlösung, mit Ringerlösung und mit Normosallösung, jenem nach der Ionenanalyse des menschlichen Blutserums hergestellten Serumsalz.

Wenn das p_H der Phosphatpufferlösung nach der sauren Seite durch tropfenweisen Zusatz von n/10 Salzsäure verschoben wird, so kann beobachtet werden, daß die erwähnte feine Trübung verschwindet. Nach genügend langer Zugabe von Salzsäure finden sich auch im Sediment keine Insulinkristalle mehr.

Ich konnte das kristallinische Insulin „Bonn" dadurch lösen, daß ich 1 mg in 5 ccm Phosphatpuffer aufschwemmte, durch langsamen Zusatz von HCl die Kristalle zum Verschwinden brachte und dann durch Auffüllen mit Pufferlösung auf 10 bzw. 20 ccm die gewünschte Insulinkonzentration erreichte. Durch das Auffüllen mit Pufferlösung und damit durch die Verschiebung des p_H wieder nach 7,34 hin, fallen die Kristalle nicht aus, eine Tatsache, die mir für die Anstellung weiterer Versuche und für die praktische Anwendung des kristallinischen Insulins „Bonn" beachtlich erscheint.

Bei Verwendung von n/3000 HCl sowie von n/1000 und n/100 konnten jedesmal Insulinkristalle im Sediment nachgewiesen werden, dagegen

gelang der Nachweis nicht mehr bei Verwendung von n/50 oder n/10 Salzsäure.

Eine weitere Möglichkeit der Lösung besteht demnach darin, daß 1 mg Insulin in 1—2 ccm n/50 Salzsäure gelöst wird und durch Auffüllen mit destilliertem Wasser oder Phosphatpuffer die gebrauchte Insulinverdünnung hergestellt werden kann.

Versuche über den Wirkungsumfang des salzsauren Insulins.

Bei der Lösung des kristallinischen Insulins „Bonn" in n/50 Salzsäure ergab sich die Frage, ob das Insulin seinen vollen Wirkungsumfang beibehält, oder ob es etwa durch die Salzsäurezugabe einen Teil seiner Wirkung verliert. Zur Feststellung des Wirkungsumfanges arbeitete ich genau nach der von Kohl angegebenen und bereits erwähnten Methode zur Standardisierung des kristallinischen Insulins mittels des Flächenwertes. Pro kg Kaninchen wurden acht Tieren je 5 γ Insulin (Fraktion Nr. 22) intravenös injiziert. Von diesem Insulin hatte ich 1 mg in 2 ccm n/50 HCl gelöst und die Lösung mit Aqua dest. soweit verdünnt, daß die Salzsäurekonzentration n/2500 betrug.

Tabelle 2.

Wirkungsumfang des in Salzsäure gelösten Insulins.

Kaninchen Nr.	Gewicht in g	Insulin auf 1000 g Testtier in γ	Maximale Senkung	Mittlere Senkung	Dauer der mittleren Senkung in Min.	Blutzuckerausgangswert wurde erreicht nach Std.	Wirkungsumfang in qcm	Wirkungsumfang von 1 γ
12	2000	5	55	31	26	1	8,00	0,80
13	1700	5	26	14	60	2	10,10	1,19
14	1200	5	53	32	96	4	37,90	6,32
74	1600	5	55	18	58	3	15,04	1,88
79	1800	5	44	26	88	4	29,56	3,28
97	1700	5	73	57	58	2	31,04	3,65
98	1800	5	32	20	46	2	10,96	1,22
99	1500	5	18	11	72	3	8,16	1,09
							Mittelwert:	2,42
Wirkungsumfang nach Zusatz von Trikresol und Glucose.								
12	1300	5	28	17	72	3	12,24	1,88
13	1700	5	34	21	82	3	16,80	1,98
14	1300	5	54	28	160	5	43,10	6,63
74	1500	5	64	32	78	3	28,00	3,73
79	1700	5	31	16	72	3	12,80	1,50
97	1700	5	43	25	74	3	17,16	2,02
98	1800	5	35	22	66	2	11,52	1,28
99	1500	5	43	21	70	3	18,00	2,40
							Mittelwert:	2,68

Tabelle 2 zeigt, daß im Mittel der Wirkungsumfang von 1 γ Insulin einer Fläche von 2,42 qcm entspricht.

Denselben acht Kaninchen wurden jeweils 8 Tage später wiederum 5 γ Insulin pro kg Testtier injiziert. Dem in n/50 HCl gelösten und mit Aqua dest. verdünnten Insulin war diesmal als Konservierungsmittel nach früheren Angaben der I. G. Farbenindustrie 0,5% Glucose und 3% Trikresol (Schering-Kahlbaum) beigegeben. Der Wirkungsumfang des mit dem Konservierungsmittel versetzten Insulins entsprach für 1 γ im Mittel 2,68 qcm (Tabelle 2). Die Differenz im Wirkungsumfang von 0,26 qcm zwischen dem in Salzsäure gelösten Insulin mit und ohne Zusatz des Konservierungsmittels muß als biologische Schwankungsbreite angesehen werden. Im ganzen entsprachen aber die gefundenen Werte für den Wirkungsumfang den Ergebnissen, die Kohl bei der Aufschwemmung des Insulins in Phosphatpufferlösung erhalten hat.

Es wird mithin die Wirkung des Insulins nach vollkommener Lösung in Salzsäure und nach Zusatz eines Konservierungsmittels nicht wesentlich verändert. Die Wirkung beträgt im Mittelwert von 16 Versuchen 2,55 qcm für 1 γ Insulin „Bonn" (Fraktion Nr. 22).

Zur Versuchskontrolle wurden drei Tieren je 1,5 ccm n/2500 Salzsäure mit 0,5% Glucose und 3% Trikresol injiziert. Der Blutzucker fiel nach dieser Injektion nicht maximal ab, sondern unterlag während der drei Versuchsstunden nur der geringen physiologischen Schwankung von wenigen mg%.

Dasselbe Ergebnis konnte ich bei weiteren fünf Versuchen erhalten, bei denen das in HCl gelöste und mit Trikresol und Glucose versehene Insulin $2^1/_2$ Monate gelagert hatte. Das Insulin „Bonn" verliert demnach bei obiger Behandlung auch nach längerer Zeit nichts von seiner Wirkung. Diese Tatsache, die der Insulinhandel sich bereits zunutze gemacht hat, war für das kristallinische Insulin „Bonn" noch nicht bekannt. Sie festzustellen ist deshalb nicht unwichtig. Sie berechtigt, die Bonner Kristalle den von anderen Laboratorien hergestellten Präparaten, was Wirkungsweise, Wirkungsumfang und Konservierungsmöglichkeit anbetrifft, zum mindesten als gleichwertig an die Seite zu stellen.

Zur Frage der Lösung des kristallinischen Insulins „Bonn" im Blutserum ist zu bemerken, daß Bürger und Kohl festgestellt haben, daß Blutserum gesunder Menschen eine insulinzerstörende Kraft besitzt. Sie haben versucht, diese insulinzerstörende Kraft durch Inaktivierung des Serums auszuschalten und erhitzten zu diesem Zweck das Serum 45 Minuten lang auf 56°. Das erhitzte Serum wurde dann mit dem darin gelösten Insulin 14 Stunden bei 37° aufbewahrt und hinterher Testtieren injiziert. Es konnte festgestellt werden, daß das mit inaktivem Serum in Berührung gewesene Insulin noch einen guten Wirkungsumfang hatte, der aber hinter dem in Phosphatpuffer aufgeschwemmten Insulin erheblich zurückblieb.

Aus fünf Versuchen konnte ich ersehen, daß Rinderserum, das gesunden Schlachttieren steril entnommen worden war, nach der Erhitzung auf

56° 25 Minuten lang noch seine volle insulinzerstörende Kraft besitzt, d. h. daß das im erhitzten Serum gelöste Insulin nach 14 Stunden Aufbewahrung bei 37° nicht imstande war, den Blutzucker der Testtiere zum Abfall zu bringen.

Die insulinzerstörende Kraft des Serums und die Gefahr des anaphylaktischen Schocks machen das Blutserum als Lösungsmittel für das kristallinische Insulin „Bonn" ungeeignet.

Zusammenfassung.

Aus meinen Versuchen glaube ich folgende Ergebnisse herausstellen zu dürfen:

1. Das kristallinische Insulin „Bonn" ist nicht vollständig in Phosphatpufferlösung vom $p_H = 7{,}34$ löslich.

2. Nach Aufschwemmung des Insulins in Phosphatpuffer und nach Abzentrifugieren des ungelösten Teils verhält sich die gleiche Menge der klaren überstehenden Flüssigkeit zur gleichen Menge des Rückstandes wirkungsmäßig wie 1 : 3,8, d. h. es gehen bei einem $p_H = 7{,}34$ nur 21 % des Insulins in Lösung.

3. Nach gutem Umschütteln des ungelösten Insulins im Phosphatpuffer und nach schneller Injektion kommt alles in der Aufschwemmung enthaltene Insulin voll zur Wirkung.

4. Das kristallinische Insulin „Bonn" ist in physiologischer Kochsalzlösung, Ringerlösung und Normosal sowie in n/3000, n/1000 und n/100 Salzsäure nicht vollständig löslich. In Blutserum und n/50 oder n/10 Salzsäure kann es in Lösung gebracht werden.

5. Das salzsaure Insulin verliert nicht an Wirkung.

6. Der Zusatz bestimmter Konservierungsmittel beeinträchtigt die Wirkung des Insulins „Bonn" nicht.

7. Das salzsaure Insulin „Bonn" ist über längere Zeit haltbar.

8. Rinderserum ist wegen der insulinzerstörenden Kraft und wegen der Gefahr des anaphylaktischen Schocks als Lösungsmittel für das kristallinische Insulin „Bonn" ungeeignet.

Schrifttum.

1) Bruch, E.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **173**, 439 (1933). — 2) Bürger, M.: Z. f. Augenheilkde. **55** (1925). — 3) Bürger, M., u. W. Brandt: Z. f. d. ges. exper. Med. **96**, 375 (1935). — 4) Bürger, M., F. Horn, V. Ruppert: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **178**, 482 (1935). — 5) Bürger, M., H. Kohl: Ebenda **174**, 130 (1933). — 6) Bürger, M., H. Kohl: Ebenda **178**, 269 (1935). — 7) Kohl, H.: Ebenda **173**, 452 (1933). — 8) Kohl, H.: Ebenda **182**, 550 (1936). — 9) Stallmann, B.: Ebenda **185**, 77 (1937). — 10) MacLeod, I. I. R.: Kohlehydratstoffwechsel und Insulin. (Übersetzt H. Gremels.) Berlin, Jul. Springer, 1927. — 11) Staub, H.: Insulin. Berlin, Jul. Springer, 1925.

Lebenslauf

Als Sohn des ordentlichen Professors der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Berlin Kurt Neumann-Kleinpaul wurde ich, Heinz-Ulrich Neumann-Kleinpaul, am 15. Dezember 1912 in Eydtkuhnen (Ostpr.) geboren. Bis zur Obersekunda besuchte ich das Staatl. Französische Gymnasium in Berlin. 1932 machte ich an der Staatl. Ritterakademie Johanneum in Liegnitz das Abitur. In den ersten vier Semestern studierte ich in Freiburg i. Br. und bestand im Sommersemester 1934 in Rostock das Physikum. Die klinischen Semester verbrachte ich in Berlin und Bonn, wo ich 1938 das Staatsexamen ablegte.

Druck von Friedr. Vieweg & Sohn in Braunschweig
Printed in Germany